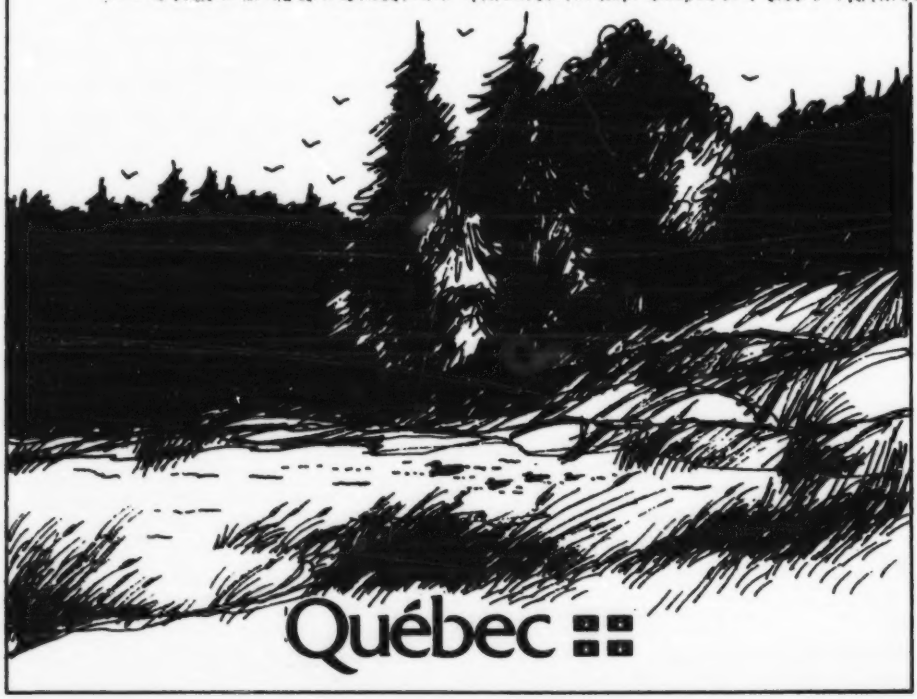
PERSISTANCE DES SPORES DE BACILLUS THURINGIENSIS DANS LE SOL FORESTIER SUITE AUX PULVÉRISATIONS AÉRIENNES CONTRE LA TORDEUSE DES BOURGEONS DE L'ÉPINETTE AU QUÉBEC EN 1984.



Québec

88-00621/

Persistance des spores de *Bacillus thuringiensis* dans le sol forestier suite aux pulvérisations aériennes contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette au Québec en 1984

Pierrette Cardinal, microbiologiste
Pierre-Martin Marotte, biologiste

Service des études environnementales

Gouvernement du Québec
Ministère de l'Énergie et des Ressources
Direction de la Conservation

Québec, Juin 1987

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier chaleureusement monsieur Guy Parent pour sa contribution à la compilation des données et à la conception des figures et tableaux; madame Sylvie Delisle pour son appui technique en informatique; monsieur Renaud Dostie pour sa contribution à la méthodologie d'échantillonnage et monsieur Bruno Boulet pour son expertise statistique et finalement Mesdames Linda Huron et Marie-France Bérubé pour la dactylographie.

Nos remerciements s'adressent également à madame Brigitte Lamontagne pour sa contribution à la mise au point de la méthodologie analytique, Céline Blanchet, Monique Dubé et Brigitte St-Onge pour la compilation des résultats et l'analyse microbiologique des échantillons.

RESUME

Dans le cadre du suivi environnemental relié au quinzième programme de pulvérisations aériennes d'insecticides contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (Choristoneura fumiferana, Clem.), une étude a été effectuée par le ministère de l'Energie et des Ressources afin de suivre l'évolution du Bacillus thuringiensis (B.t.) dans le sol forestier. À l'intérieur des aires traitées en 1984, 428 échantillons de sol ont été récoltés. La concentration maximale de spores viables détectée suite aux pulvérisations opérationnelles fut de 706 X 10^3 U.F.C./cm^2 et on note une diminution faible mais significative des concentrations de spores de B.t. après 11 mois. Les résultats démontrent une persistance des spores jusqu'à 11 mois suivant les applications. Les niveaux détectés alors demeurent relativement importants et le maximum observé fut de 364 X 10^3 U.F.C./cm^2.

ABSTRACT

In 1984, within the environmental monitoring related to the fifteenth aerial insecticide spraying program against spruce budworm (Choristoneura fumiferana, Clem.), the ministère de l'Energie et des Ressources of Québec carried out a sampling program in order to study the fate of Bacillus thuringiensis (B.t.) in forest soil. A total of 428 soil samples were collected inside the treated areas. The maximum concentration of viable spores detected just after operational spraying was 706 X 10^3 C.F.U./cm^2. After 11 months a slight but significant decrease in concentrations was observed. The results showed a persistence of spores up to 11 months after spraying. Concentrations detected then were still quite considerable and the maximum observed was 364 X 10^3 C.F.U./cm^2.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS iii
RESUME v
ABSTRACT vii
TABLE DES MATIÈRES ix
LISTE DES TABLEAUX x
LISTE DES FIGURES xi

1- INTRODUCTION 1

2- TERRITOIRE ET PREPARATIONS D'INSECTICIDES..... 3

3- MATERIEL ET METHODES..... 7

3.1 Description des stations..... 7
3.2 Méthode d'échantillonnage..... 7
3.3 Méthodologie analytique..... 9

4- HISTORIQUE DES TRAITEMENTS..... 11

5- RESULTATS..... 13

5.1 Statistiques descriptives 15
5.2 Statistiques comparatives 21
5.2.1 Test de Wilcoxon 21
5.2.2 Test de Kendall 21

6- DISCUSSION..... 25

7- CONCLUSION..... 29

BIBLIOGRAPHIE 31

ANNEXE 1: Composition des milieux de cultures..... 35

ANNEXE 2: Concentrations de spores de B.t. détectées dans le sol suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques en 1984..... 36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Préparations d'insecticides biologiques pulvérisées dans les parcelles faisant l'objet de cette étude..... 5

Tableau 2: Historique des traitements au Bacillus thuringiensis 12

Tableau 3: Statistiques descriptives..... 18

Tableau 4: Statistiques comparatives: Test de Wilcoxon..... 22

Tableau 5: Coefficient de corrélation de rang de Kendall..... 24

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	Programme de lutte contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette, réalisé au Québec en 1984.....	4
Figure 2:	Station d'échantillonnage.....	8
Figure 3:	Echantillonnage de sol.....	8
Figure 4:	Concentrations de B.t. détectées dans le sol suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques en 1984.....	14
Figure 5:	Histogrammes de fréquence illustrant la distribution des échantillons par classes de concentrations.....	16
Figure 6:	Histogramme illustrant les moyennes, médianes et maximums de l'ensemble des 27 quadrats considérés pour l'interprétation.....	19
Figure 7:	Histogramme de fréquence illustrant, par classes de concentrations, la distribution des échantillons récoltés de 1 jour à 3 mois suivant le traitement.....	20

1- INTRODUCTION

En vue de réduire les dommages occasionnés par la tordeuse des bourgeons de l'épinette (Choristoneura fumiferana Clem.), le ministère de l'Energie et des Ressources a entrepris, pour la 15e année consécutive, un programme de pulvérisations aériennes d'insecticides biologique et chimique.

En 1984, pour une première fois, des quantités considérables d'insecticides biologiques furent appliquées en milieu forestier. Le Ministère a donc mis sur pied un programme de surveillance environnementale. Il visait particulièrement à déterminer la contamination, la persistance et l'évolution des spores viables de B.t. dans l'air (Major et al. 1984), l'eau (Dugal et al. 1985) et le sol forestier.

Bien que considérées non toxique, il est établi que les spores de B.t., formes résistantes de la bactérie, peuvent persister considérablement longtemps dans le sol. Cette caractéristique s'applique à l'ensemble des bactéries du genre Bacillus (Laskin, 1977). Cependant, il faut se rappeler que lors des applications, le B.t. entre dans un système dynamique dans lequel sa croissance et sa survie dépendent du type et des conditions du sol, ainsi que de son habilité à compétitionner avec les microorganismes de cet écosystème (Kurstak, 1982). L'équilibre écologique de ce milieu peut être perturbé par l'arrivée massive d'une population microbienne étrangère susceptible de se développer. La microflore et la microfaune tellurique ont un rôle important, voire essentiel dans la regénération du sol. Elles régissent les cycles des

éléments minéraux affectant directement la nutrition des végétaux. Partant de ce fait, Mc Bride (1980) recommande d'entreprendre des études plus approfondies afin de déterminer l'effet que peut entraîner le B.t. sur ces populations microbiennes si les concentrations persistantes s'avèrent trop élevées.

Dans un sol ombragé de forêt, la population microbienne la plus importante se trouve fréquemment dans le ou les deux premiers centimètres de sol (Drapeau, 1977). En conséquence, la présente étude n'a été appliquée que sur les horizons organiques superficiels constitués principalement de matières végétales en décomposition.

Pour déterminer la persistance des spores de B.t. dans le sol des aires traitées, l'échantillonnage s'est poursuivi jusqu'à 11 mois suivant l'application.

2- TERRITOIRE ET PREPARATIONS D'INSECTICIDES

En 1984, les régions soumises aux pulvérisations s'étendent sur tout le sud-est du Québec. Elles couvrent une superficie totale de 673 046 hectares (Figure 1). D'une part, 55% de cette superficie a été traité aux insecticides chimiques et d'autre part, 45% a reçu une application d'insecticide biologique. L'ingrédient actif, Bacillus thuringiensis var. kurstaki a été utilisé dans diverses préparations. Il s'agit des produits suivants: Thuricide^{MD} 48LV, Thuricide^{MD}32LV, Futura^{MD} et Dipel^{MD}132. De plus dans le cadre de traitements expérimentaux, une nouvelle préparation de B.t. (SAN-415) a été appliquée sur une superficie totalisant 532 ha. Le tableau 1 présente la description détaillée des préparations d'insecticides de même que les doses employées dans les parcelles faisant l'objet de cette étude.

Les traitements reliés au suivi du sol forestier se sont déroulés du 14 juin au 2 juillet. Les appareils utilisés lors de ce programme de pulvérisations sont des quadrimoteurs de type Constellation L-749 et DC-4G de même que des monomoteurs Piper Pawnee. Le système de pulvérisations pour les quadrimoteurs est constitué de longerons munis de 154 gicleurs ouverts. Dans le cas des monomoteurs, le système est constitué de longerons munis de 6 mini Micronair AU-5000^{MD}.

Figure 1: **Programme de lutte contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette, réalisé au Québec en 1984.**

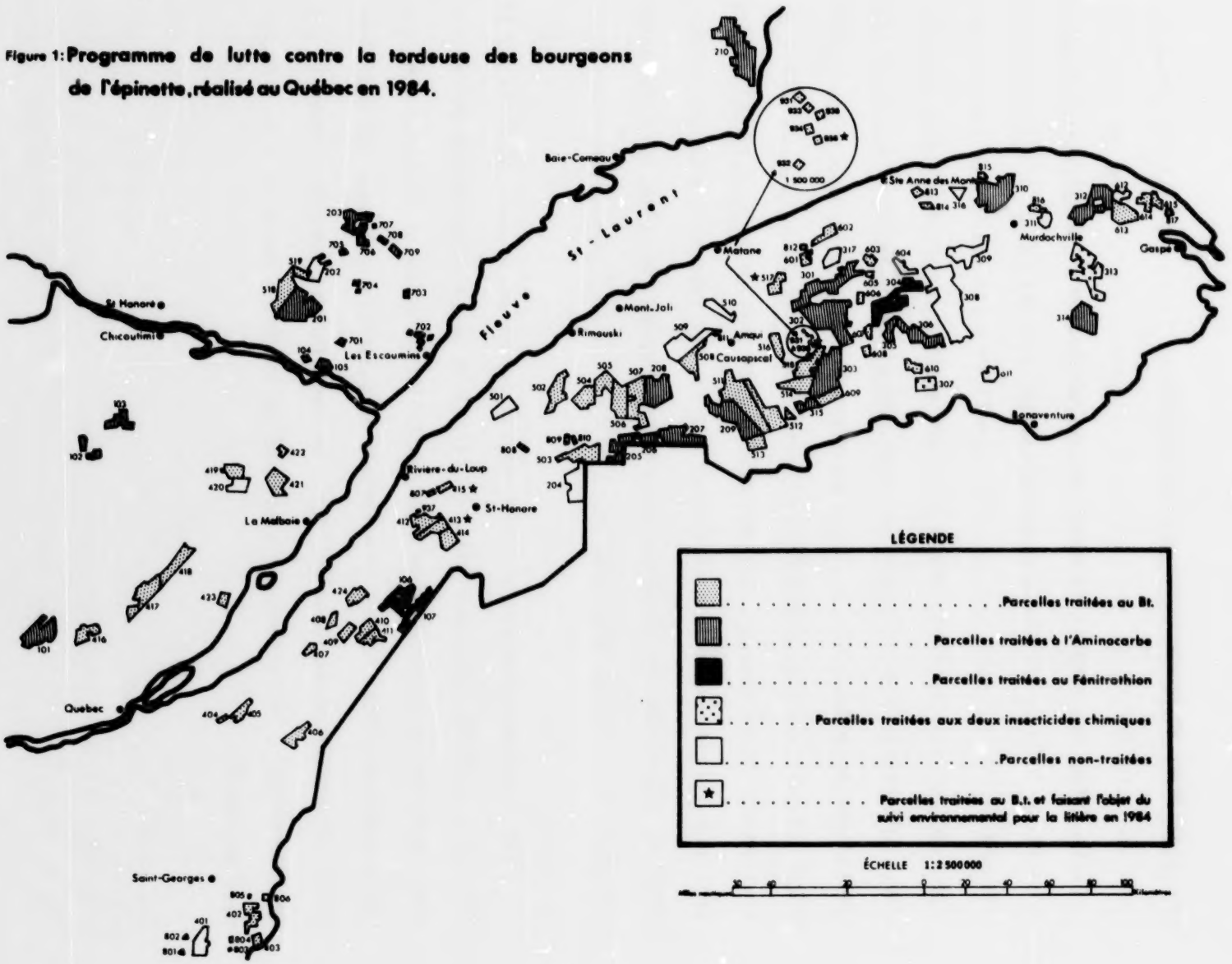


TABLEAU 1: Préparations d'insecticides biologiques pulvérisées dans les parcelles faisant l'objet de cette étude.

Parcelle	Superficies traitées (ha)	Produit	DOSE		Volume (l/ha)	Préparation (V/V)				Début du traitement
			M.U.I.$^{\Delta}$/ha	U.F.C.$^{\blacktriangle}$ x 10^5/cm^2		insecticide	sorbitol	eau	chevron sticker	
413	8 709	T -32LV	20	5,5	4,68	50%	20%	30%	1/1 600	84/06/14
415	1 500	T-32LV	20	5,5	4,68	50%	20%	30%	1/1 600	84/06/14
517	4 084	T-48LV	30	4,3	2,37	100%	--	--	--	84/07/02
936	106	SAN-415	30	5,9	3,55	100%	--	--	--	84/06/16

$^{\Delta}$ Milliard d'unités internationales

$^{\blacktriangle}$ Unités formant des colonies (Déterminé par le laboratoire de microbiologie du ministère de l'Energie et des Ressources)

T= Thuricide ^{MD}

3- MATERIEL ET METHODES

3.1 Description des stations d'échantillonnage

Chaque station est composée de trois quadrats ($3m^2$) disposés en triangle. Elle est identifiée par une lettre précédée d'un nombre correspondant à la parcelle. Tous les quadrats sont délimités préalablement par quatre piquets (Figure 2).

Les stations d'échantillonnage sont toutes localisées à l'intérieur de la zone traitée, dans des peuplements de résineux (sapins ou épinettes) reposant sur un podzol ou brunisol. Le couvert végétal varie de 10 à 90% pour l'ensemble des 13 parcelles étudiées. Parmi celles-ci, neuf sont traitées au Thuricide^{MD}32LV, trois au Thuricide^{MD}48LV et finalement une traitée au SAN-415^{MD}.

3.2 Méthode d'échantillonnage

Une heure avant le passage de l'avion, un prééchantillonnage a été effectué à chaque quadrat. On a procédé de la même façon pour le postéchantillonnage, selon la séquence suivante: 1, 2, 9 jours, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 semaines, 3 et 11 mois.

Afin d'éliminer au maximum le risque de contamination, l'échantillonneur se lave les mains à l'Hibitane^{MD} avant d'entreprendre toutes manipulations.

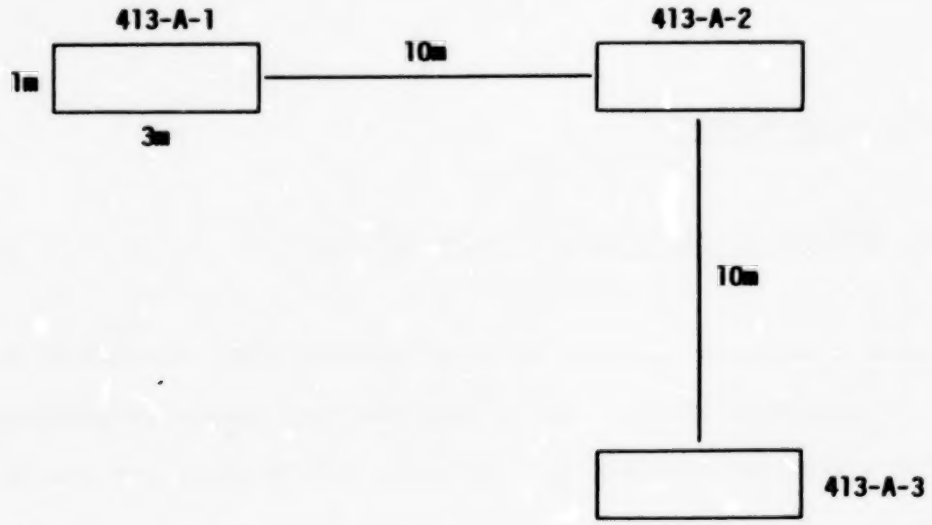


Figure 2 : Station d'échantillonnage

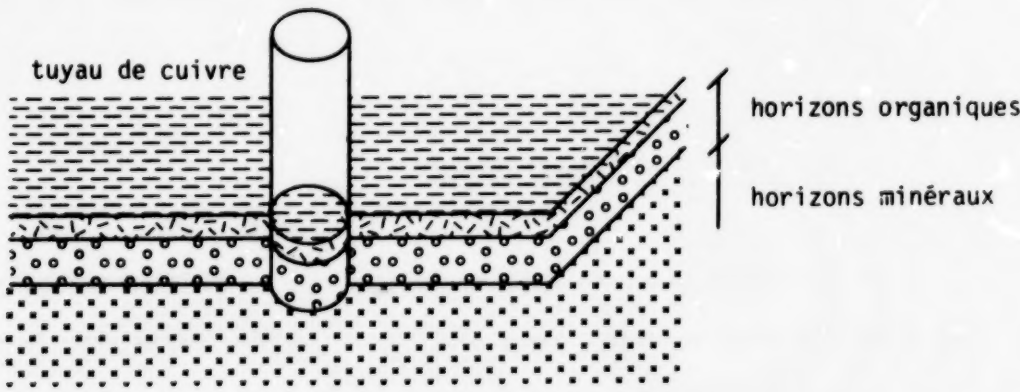


Figure 3 : Echantillonnage de sol

De plus, le tuyau de cuivre et le déplantoir servant à l'échantillonnage sont nettoyés à l'alcool 70%.

Chaque échantillon est composé de deux carottes de litière retirées à l'aide d'un tuyau de cuivre de 5,2 cm de diamètre enfoncé dans le sol jusqu'à l'horizon minéral (2-3 cm) (Figure 3). À l'aide d'un déplantoir, les deux prélèvements sont déposés dans un sachet stérile (Whirl Pak^{MD}) scellé immédiatement. Les échantillons sont conservés dans des glacières et congelés le plus rapidement possible (-20°C).

3.3 Méthodologie analytique

Au moment de l'analyse, l'échantillon contenu dans un sac (Whirl Pak^{MD}) est transféré directement dans un erlenmeyer contenant 200 ml d'eau distillée stérile.

Le mélange est agité 45 minutes afin de permettre une homogénéisation complète. Par la suite, il est pasteurisé afin d'éliminer une grande partie des microorganismes indigènes du sol, facilitant ainsi un meilleur isolement des spores du B.t.

Trois aliquotes de 0,1 ml sont prélevés de la suspension et étalés sur gélose nutritive (Annexe I). Des dilutions sont préparées et ensemencées tel que précédemment. Le décompte est effectué après 16 heures d'incubation à

29°C. Seuls les pétris comptant entre 30 et 300 colonies morphologiquement semblables à celles du B.t. sont considérés. Sur la gélose elles apparaissent beiges, plates et rugueuses.

Pour chaque échantillon, 20 colonies dans le ou les pétris le(s) plus représentatif(s) de la population sont repiquées sur gélose nutritive. Les pétris sont incubés à 29°C pour une période totale de 50 heures, permettant ainsi la libération de la spore et du cristal caractéristique du B.t. À partir de ces 20 colonies, des frottis sur lames sont préparés. Le pourcentage de B.t. est alors déterminé par la coloration de Smirnoff (1962) qui met en évidence le cristal du B.t.

Considérant qu'une colonie peut provenir d'une seule spore ou d'un amas de spores, les résultats sont exprimés en unités formant des colonies (U.F.C.).

La technique citée précédemment a été appliquée sur tous les prélèvements sauf les échantillons post 11 mois où une modification a été apportée. En effet, le PEMBA, un milieu sélectif pour quelques bacilli dont Bacillus cereus et B.t. a été utilisé (Annexe I). On a pu ainsi éliminer la pasteurisation et le repiquage des colonies. La température d'incubation est de 37°C. Le décompte est effectué après 24 heures et le pourcentage de B.t. déterminé après une incubation de 40 heures. Toutefois, le B.t. présente une morphologie différente sur ce milieu nutritif. Les colonies sont vertes, d'apparence rugueuse et plus petites. Les cristaux sont plus gros et difformes (Cardinal, 1985).

4- HISTORIQUE DES TRAITEMENTS

Quoique traitées aux pesticides chimiques dans les années antérieures, les parcelles à l'étude n'ont été l'objet que d'une seule application d'insecticide biologique au printemps de 1984. Cependant, des préparations de B.t. ont été appliquées lors des ajustements des systèmes de pulvérisations (calibrages), à l'intérieur des parcelles 413 et 415 et ce jusqu'à deux ans précédant le traitement opérationnel. De plus, ces deux parcelles ainsi que 517 et 936 sont à l'intérieur d'un périmètre de 11 km d'aires traitées antérieurement au B.t. (Tableau 2).

TABLEAU 2: Historique des traitements au Bacillus thuringiensis

ANNÉE / PARCELLE	1984	1983	1982	1981	1980
413	T-32LV	C 8kmB.t.	S.T. 12kmB.t.	S.T. 6,5kmB.t.	S.T. 5,5kmB.t.
415	T-32LV	C 4,5kmB.t.	C	S.T.	S.T.
517	T-48LV 10,2kmB.t.	S.T.	S.T.	S.T.	S.T.
936	SAN-415 2kmB.t.	S.T.	S.T.	S.T.	S.T.

Km : Distance à laquelle se trouvent les parcelles ayant subi un traitement au B.t. avant le prééchantillonnage.
C : Calibrage B.t.
S.T.: Sans traitement au B.t.

5- RESULTATS

Au total 428 échantillons de sol ont été récoltés dans les quatre parcelles étudiées. Durant la campagne d'échantillonnage, certains délais de récolte n'ont pu être respectés en raison de contraintes opérationnelles. Ainsi, l'échantillonnage des stations 415 F, G et H a été interrompu suite à des opérations forestières.

En annexe II, le tableau 2.1 présente en détails les résultats obtenus aux différents quadrats. Pour les fins des analyses statistiques chaque quadrat sera traité comme une unité distincte. En effet, le dépôt d'insecticide ne peut être considéré a priori comme étant uniforme à l'intérieur d'une même station.

Le comportement de la spore du B.t. devant être le même pour le Thuricide 32LV et le Thuricide 48LV, les résultats sont regroupés indépendamment du produit utilisé. De plus, vue les fortes fluctuations observées, seulement quatre délais ont été retenus: pré, post 1-2 jours, 2 ou 3 mois et 11 mois. La figure 4 présente des exemples de fluctuations pour 6 des 27 quadrats étudiés.

Pour l'analyse 27 quadrats seront considérés. Les stations 415 F, G et H ont été retirées puisqu'elles ne possèdent pas la taille d'échantillonnage requise. Pour ces mêmes raisons, les résultats de la station 415 B, obtenus 8 semaines (2 mois) suivant les pulvérisations, sont regroupés avec les résultats obtenus à 3 mois.

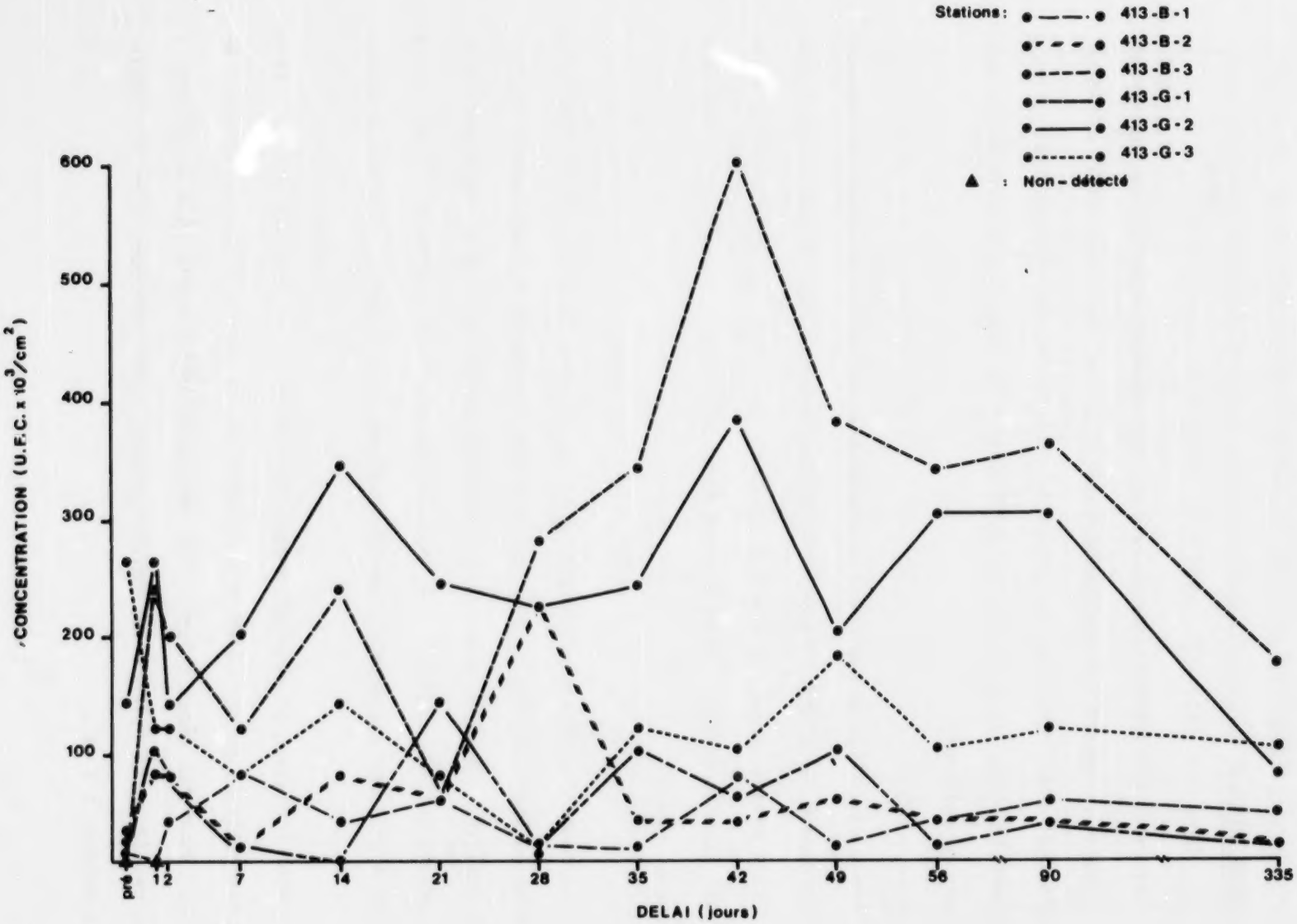


Figure 4: Concentrations de B.t. détectées dans le sol suite aux pulvérisations d'insecticides biologiques en 1984

5.1 Statistiques descriptives

Des concentrations de B.t. ont été détectées avant le traitement dans 85% des quadrats. Rappelons qu'il y eut des tests de calibration dans les parcelles 413 et 415 au cours des années précédentes. De plus, toutes se situent à moins de 11 km des aires traitées au B.t. antérieurement (Tableau 2). Les concentrations minimales et maximales observées sont respectivement N.D. et 257 X 10^3 U.F.C./cm^2, alors que 85% des échantillons contiennent entre N.D. et 50 X 10^3 U.F.C./cm^2 (Figure 5).

Considérant qu'il n'y a pas de différence entre les concentrations observées après 1 et 2 jours, une moyenne des concentrations détectées pour ces deux délais a éte calculée. Ainsi, une meilleure évaluation de la quantité de spores présente dans le sol immédiatement après le traitement est obtenue. Par rapport aux valeurs obtenues en prétraitement, une forte augmentation des concentrations apparaît dans 74% des stations. Les minimums et maximums sont respectivement 10,6 X 10^3 et 380 X 10^3 U.F.C./cm^2. Il est à noter que 23% des échantillons se répartissent entre N.D. et 50 X 10^3 U.F.C./cm^2.

Des concentrations variant de 9,54 X 10^3 à 50 X 10^3 U.F.C./cm^2 ont été détectées après 2 ou 3 mois dans 48% des quadrats. Le minimum et le maximum sont respectivement de 9,54 X 10^3 et 487 X 10^3 U.F.C./cm^2.

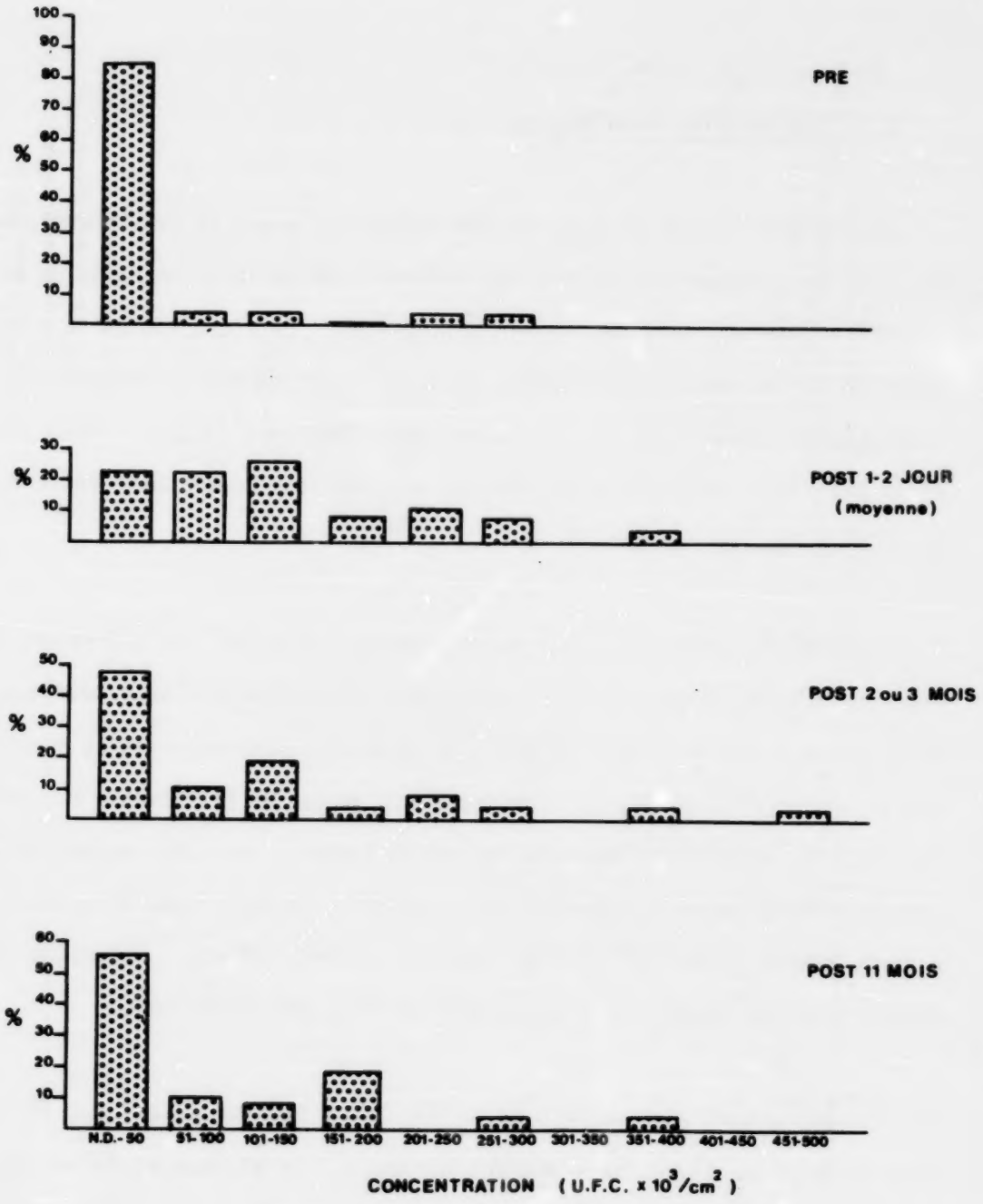


Figure 5: Histogrammes de fréquence illustrant la distribution des échantillons par classes de concentrations

La présence de B.t. a également été enregistrée après 11 mois. Un peu plus de 50% des échantillons présentent des concentrations variant de 7,6 X 10^3 à 50 X 10^3 U.F.C./cm^2. Le minimum et le maximum sont de 7,6 X 10^3 et 364 X 10^3 U.F.C./cm^2. Ces résultats sont similaires à ceux observés pour les deux délais précédents, toutefois les échantillons sont légèrement plus nombreux dans les classes de faibles concentrations. Après 11 mois, les quantités de B.t. demeurent dans 85% des cas, égales ou supérieures à celles enregistrées en prétraitement.

Le tableau 3 présente pour l'ensembre des 27 quadrats, les moyennes, minimums, maximums, médianes et écart-types pour chacun des délais étudiés. L'histogramme présenté à la figure 6 nous permet de visualiser ces données.

En dernière analyse, la moyenne, le minimum, le maximum, la médiane et l'écart-type de tous les résultats obtenus pour tous les délais entre 1 jour et 3 mois inclusivement, totalisant 39 quadrats et 363 échantillons, ont été calculés (Tableau 2.1, Tableau 3). Un histogramme de fréquence correspondant est illustré à la figure 7. Ce dernier démontre la distribution des échantillons par classe de concentrations; près de la moitié des échantillons (42%) contiennent entre N.D. et 36 X 10^3 U.F.C./cm^2.

En ce qui concerne le traitement expérimental, les concentrations de spores obtenues pour le SAN-415 sont en moyenne supérieures à celles obtenues pour les autres préparations pour tous les délais étudiés. Soulignons que le SAN-415 a été pulvérisé avec des avions monomoteurs (Tableau 2.1, Annexe II).

TABLEAU 3: Statistiques descriptives

DELAI	PRE	POST 1-2 JOURS	POST 2 ou 3 MOIS	POST 11 MOIS	**POST 1 JOUR à 3 MOIS
Nb.d'échantillon	27	27	27	27	363
Moyenne	28,9**	122	107	87	102
Médiane	2,98	108	56,0	46,2	65
Maximum	257	380	487	364	706
Minimum	N.D.	10,6	9,54	7,60	N.D.
Ecart-Type	12,5	17,9	22,7	17,3	114

* Données regroupées
** U.F.C. X $10^3/cm^2$

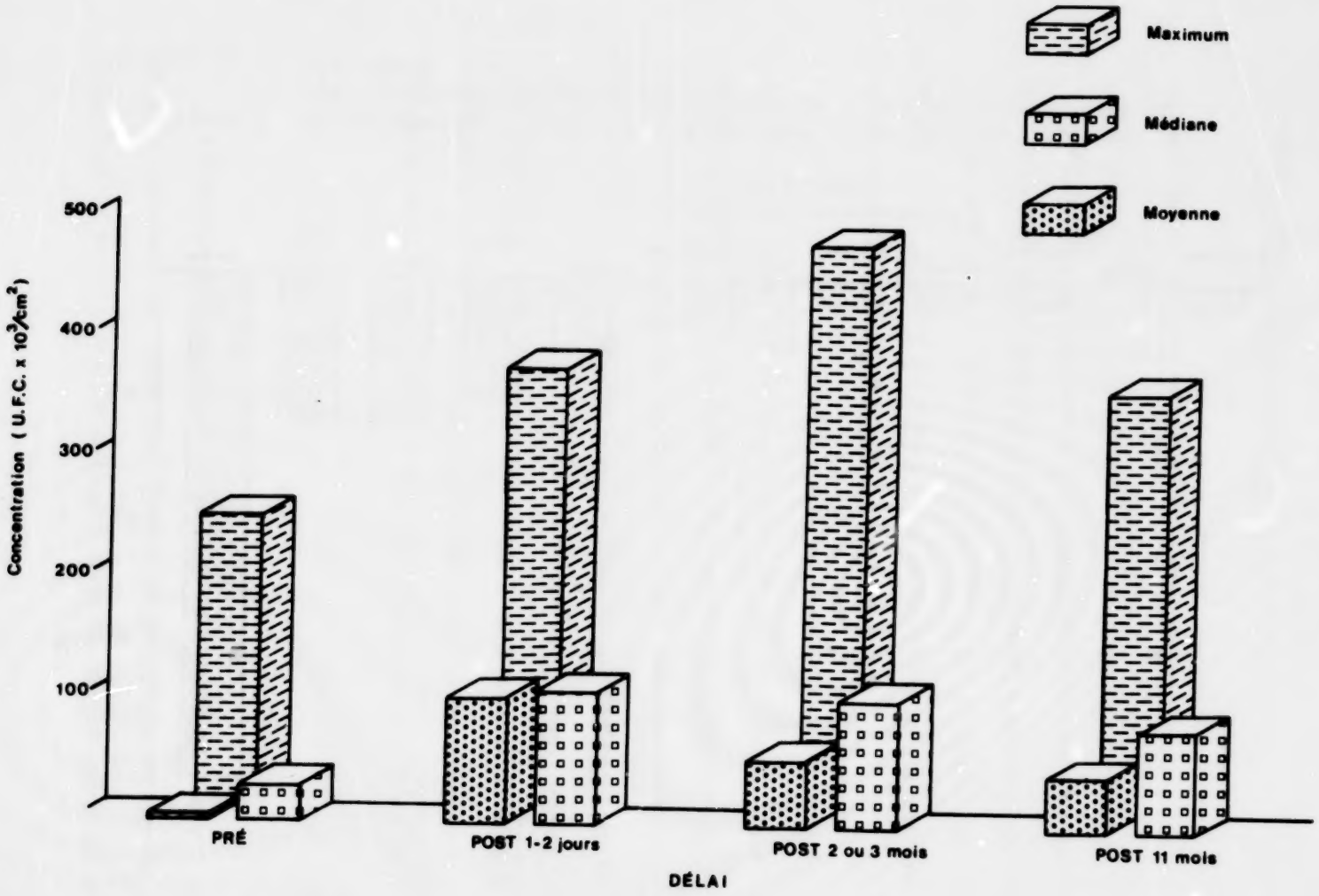


Figure 6: Histogramme illustrant les moyennes, médianes et maximums de l'ensemble des 27 quadrats considérés pour l'interprétation

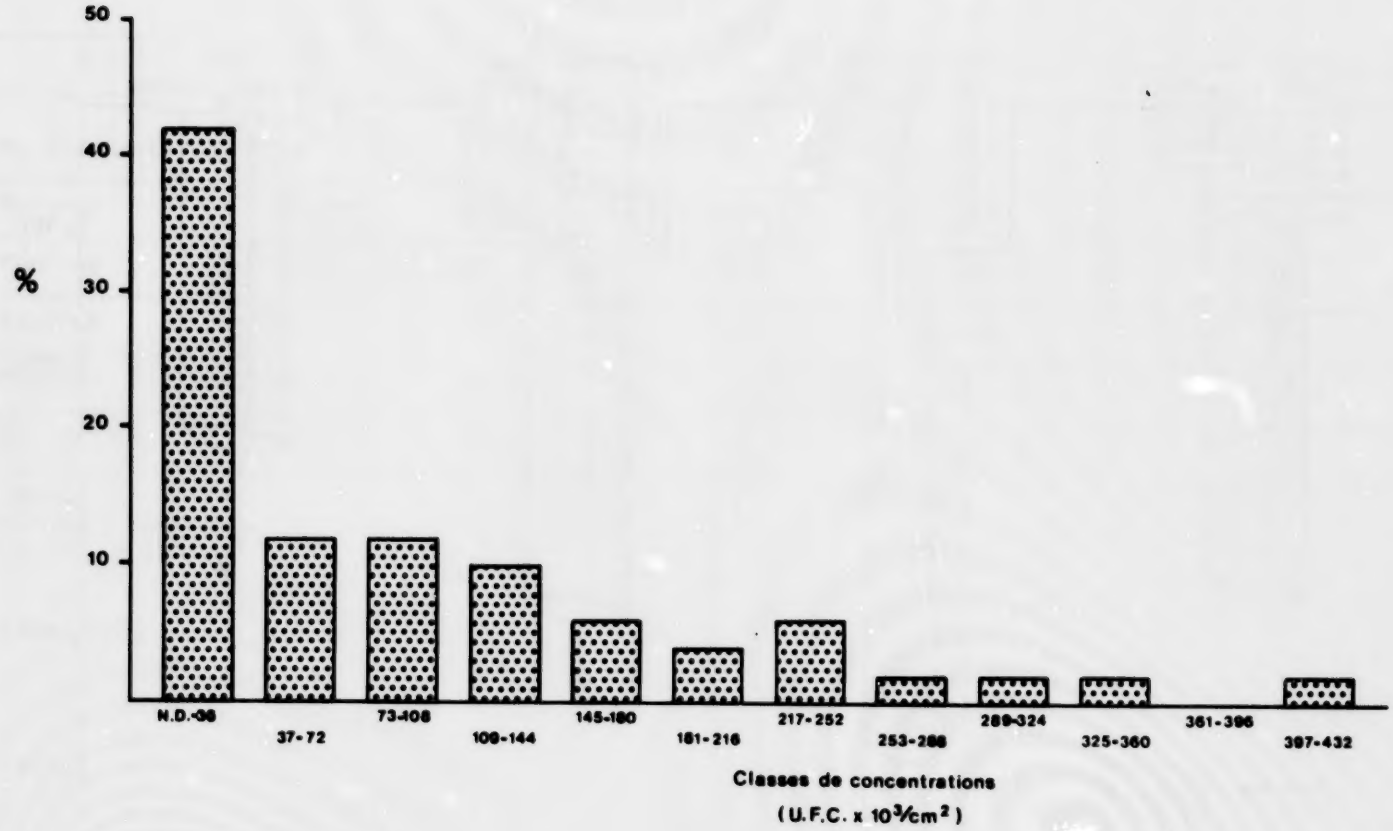


Figure 7: Histogramme de fréquence illustrant, par classe de concentrations, la distribution des échantillons récoltés de 1 jour à 3 mois suivant le traitement

5.2 Statistiques comparatives

5.2.1 Test de Wilcoxon

Des données non conformes à la distribution normale et un nombre restreint d'observations sont deux motifs qui requièrent l'utilisation des statistiques non paramétriques. Dans ce cas-ci, le T de Wilcoxon est le test le plus approprié. Il offre la possibilité de vérifier si la différence entre deux séries d'observations couplées est significative.

Les résultats obtenus pour tous les délais suivant l'application présentent une différence hautement significative (p=0,05) par rapport aux données enregistrées en prétraitement. Il n'y a pas de différence significative (p=0,05) entre les concentrations détectées immédiatement après le traitement et celles obtenues jusqu'à 2 ou 3 mois suivant l'application. La même remarque s'applique lorsque les valeurs post 2 ou 3 mois et 11 mois sont comparées. Par contre la différence est significative entre les concentrations mesurées 1 -2 jours après traitement et celles retrouvées 11 mois plus tard (Tableau 4).

5.2.2 Test de Kendall

La séquence d'observations ordonnées dans le temps entre 1 jour et 3 mois devrait révéler une diminution progressive des concentrations de spores de B.t. dans le sol. L'une des méthodes proposée par Legendre et Legendre (1984)

TABLEAU 4: Statistiques comparatives: Test de Wilcoxon

DELAIS * COMPARES	A/B	A/G	A/H	B/C	B/D	B/F	B/F	B/G	B/H	G/H
T Wilcoxon	36	29	59	161	129	149	163	125	43	174
Décision statistique	≠	≠	≠	=	=	=	=	=	≠	=

A: pré
B: post 1-2 jours (moy)
C: post 9 jours
D: post 23 jours
E: post 28 jours
F: post 35 jours
G: post 2 ou 3 mois
H: post 11 mois

1) Les valeurs soulignées d'un trait indiquent que la valeur de T calculée est inférieure à la valeur tabulée (table 16, cf Scherrer 1984)

2) Lorsque le T observé est inférieur à la valeur critique (T_{tab}=119), l'hypothèse d'équivalence (Ho) entre les concentrations de B.t. détectées doit être rejetée (P=0,05)

* Le nombre d'observations est de 27 dans tous les cas.
= Acceptation de Ho
≠ Rejet de Ho

pour tester une tendance consiste à classer l'ensemble des valeurs de la série en ordre décroissant puis de déterminer le degré de ressemblance entre ce classement et la série originale, au moyen du coefficient de corrélation de rang de Kendall. Si le coefficient est significativement différent de zéro, l'hypothèse d'une série temporelle aléatoire doit être rejetée au profit d'une tendance nettement décroissante des concentrations de B.t. résiduelles dans le sol. L'analyse des résultats obtenus pour les 27 quadrats montre que dans seulement 15% des cas une tendance à la baisse est observée (Tableau 5). L'étude de la tendance est alors d'autant plus difficile à mettre en évidence que sont importantes les fluctuations irrégulières et imprévisibles dues à des effets perturbateurs.

TABLEAU 5: Coefficients de corrélation de rang de Kendall

STATIONS	413-B	413-B	413-B	413-G	413-G	413-G	413-H	413-H	413-H
Nombre d'observations	11	11	11	11	11	11	11	11	11
Coefficient Kendall*	0,1273	0,2727	0,0909	0,5273	0,0182	0,0185	0,1111	0,111?	0,1556
Décision Statistique	=	=	=	≠	=	=	=	=	=

$T_{tab.}$ = 0,49091

STATIONS	415-B	415-B	415-B	415-B	415-B	415-B	415-B	415-B	415-B
Nombre d'observations	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Coefficient Kendall*	0,4667	0,3333	0,5556	0,0667	0,0667	0,6889	0,3333	0,1111	0,5111
Décision Statistique	=	=	≠	=	=	≠	=	=	≠

$T_{tab.}$ = 0,51111

STATIONS	517-A	517-A	517-A	517-B	517-B	517-B	517-C	517-C	517-C
Nombre d'observations	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Coefficient Kendall*	0,2143	0,1429	0,1429	0,4444	0,2143	0,2143	0,0714	0,1429	0,3571
Décision Statistique	=	=	=	=	=	=	=	=	=

$T_{tab.}$ = 0,64286

1) Les valeurs soulignées indiquent que le coefficient de corrélation de Kendall est significativement (P=0,05) différent de zéro ($T_{ob} > T_{tab}$; table 21 cf Scherrer.)

2) Lorsque le coefficient observé est supérieur où égal à la valeur critique (T_{tab}), l'hypothèse d'une série temporelle aléatoire (Ho) doit être rejetée. Il y a tendance décroissante des concentrations de B.t. résiduelles.

* Valeur absolue
= Acceptation de Ho
≠ Rejet de Ho

6- DISCUSSION

Les préparations à base de B.t. appliquées pour le contrôle de la tordeuse du bourgeon de l'épinette sont composées entre autres d'un mélange de spores viables et de cristaux contenant la -endotoxine. Cette dernière, une protéine, constitue le principal ingrédient actif (Fast, 1983). Toutefois, pour l'étude de la persistance de la bactérie dans l'environnement, notre attention se porte sur la spore étant donné son rôle dans la survie de l'espèce. En effet, celle-ci peut persister dans l'environnement et donner naissance à des cellules végétatives si les conditions du milieu sont favorables.

La répartition des spores de B.t. sur le sol, lors des pulvérisations aériennes, est influencée entre autres par le couvert végétal, les vents, la pluie et la topographie. Les fluctuations observées entre les concentrations décelées d'une parcelle à l'autre et dans le temps pourraient être attribuables à un grand nombre de facteurs. Plusieurs études démontrent que les conditions édaphiques du milieu peuvent affecter le développement ainsi que la persistance des spores de B.t. dans le sol. Les rayons ultra-violets du soleil, le pH, la température, l'aération, la dessication, les conditions nutritionnelles et finalement la compétition venant des organismes indigènes sont les principaux facteurs à considérer. (Akiba et al., 1977,1979; Cantwell,1966; Frve et al., 1976; Ignoffo et al., 1978; Morris, 1975; Saleh et al., 1970; West et al., 1984).

Des recherches démontrent que le B.t. à l'état naturel ne représente qu'une très faible proportion de la microflore de certains sols. Ce n'est cependant pas un microorganisme rare et plusieurs variétés sont connues (De Lucca, 1979; Bonnefoi, 1963; Goldberg, 1977). Les concentrations, relativement faibles de l'ordre de 5 X 10^3 U.F.C./cm^2, détectées avant les pulvérisations dans la parcelle 517 peuvent provenir d'une dérive du B.t. Cette parcelle n'a jamais subi de traitement au B.t. et se trouve à plus de 10 km des aires traitées antérieurement. Cependant, la possibilité que le B.t. soit indigène à cet endroit n'est pas écartée. Le B.t. détecté à de plus haut niveau, jusqu'à 257 X 10^3 U.F.C./cm^2, dans les autres parcelles, proviendrait de tests de calibration ou d'une dérive des zones traitées à proximité. (Major et al., 1985).

Les concentrations retrouvées après 1-2 jours suivant les pulvérisations représentent le dépôt d'insecticide au sol. Elles sont inférieures au dosage théorique des préparations de B.t. utilisées, évalué à 430 X 10^3 U.F.C./cm^2 et 590 X 10^3 U.F.C./cm^2 selon les préparations (Tableau 1). Ce phénomène serait attribuable au fait qu'en terrain couvert, une forte portion de l'insecticide se dépose sur le feuillage des arbres.

Les histogrammes (Figure 5) permettent de visualiser la distribution des échantillons par rapport à des classes de concentrations pour chaque délai. Avant le traitement, la majeure partie des échantillons contiennent de faibles concentrations de B.t. Par la suite, la distribution est beaucoup plus

étendue. Après 1-2 jours suivant les applications, les concentrations sont alors plus considérables. Notons que le nombre d'échantillons ayant une faible concentration augmente avec le temps. Il semble donc y avoir une diminution de la quantité des spores de B.t. dans le sol. En étudiant les concentrations moyennes pour chaque délai, la même tendance s'observe (Figure 6). Cependant, les concentrations enregistrées après 11 mois demeurent en majorité plus élevées qu'en pré, d'où la possibilité d'une accumulation si des traitements sont appliqués chaque année.

Le test de Wilcoxon appliqué sur les données révèle qu'il existe une différence significative entre les résultats obtenus avant et jusqu'à 11 mois suivant les arrosages. Cette observation confirme l'introduction et la persistance de spores de B.t. dans le sol suite aux programmes de pulvérisations. Une différence significative existe entre les concentrations détectées après 1-2 jours et 11 mois. Le niveau de B.t. dans le sol est relativement le même pour tous les délais étudiés entre 1-2 jours et 3 mois, ainsi qu'entre 3 mois et 11 mois. Par conséquent, le taux de diminution de la quantité de spores viables dans le sol est faible.

Le coefficient de corrélation de rang de Kendall appuie cette dernière remarque puisqu'une tendance à la diminution des concentrations, n'est évidente que dans 15% des quadrats (Tableau 5). Cependant, le nombre restreint d'échantillons masque possiblement cette tendance à la baisse.

Puisque, rappelons-le, les niveaux de B.t. retrouvés pour tous les délais entre 1 jour et 3 mois (Tableau 2.1) sont comparables, une moyenne de tous les résultats (363) correspondants est calculée (Tableau 3). Ainsi l'histogramme présenté à la figure 7 fait ressortir un profil similaire à celui obtenu pour les résultats post 3 mois (Figure 5). Ceci appuie le fait que les concentrations ne varient pas beaucoup et demeurent aux mêmes niveaux entre le premier jour et 3 mois.

Finalement, les spores de B.t. pour les préparations expérimentales de SAN-415 se comportent ici de façon similaire à ces dernières. Une persistance est observée jusqu'à 11 mois suivant le traitement (Tableau 2.1).

7- CONCLUSION

Cette étude a permis de révéler la persistance de concentrations relativement importantes des spores de B.t. var. kurstaki dans le sol forestier jusqu'à 11 mois suivant une application opérationnelle. Ce résultat s'accorde avec certaines études réalisées à l'extérieur du Québec. Les tests statistiques de Wilcoxon et Kendall indiquent que le taux de diminution des concentrations dans le sol, sur une période de 11 mois, est faible. De plus, on observe après 11 mois que les concentrations demeurent, en général, égales ou supérieures à celles observées avant les applications. Ainsi, une accumulation significative des spores de B.t. dans le sol forestier pourrait survenir si des pulvérisations sont appliquées chaque année dans les mêmes secteurs.

BIBLIOGRAPHIE

AKIBA, Y., SEKIJIWA, AIZAWA, K., 1977. "Bacillus thuringiensis (Dynamics of) in sterilize soil" dans Jpn, J. Appl. Ent. Zool., 21: 41-46.

AKIBA, YOSHIO, YASUTATA, SEKIJIWA, 1979. "Microbial Ecology studies on Bacillus thuringiensis. III. Effect of pH on growth of B.t. in soil extracts" dans Jpn. J. Appl. Entomol. Zool., 23: 220-223.

BONNEFOI, A., 1963. "Classification des souches du groupe Bacillus thuringiensis par la détermination de l'antigène flagellaire" dans Entomophaga, 8, 223-229.

CANTWELL, G.C. and R.A. FRANKLIN, 1966. "Inactivation by irradiation of spores of Bacillus thuringiensis var. thuringiensis" dans J. of Invr. Path., 8: 256-258.

CARDINAL, P., 1985. Cahier des méthodologies analytiques pour le "Bacillus thuringiensis", Gouvernement du Québec, ministère de l'Energie et des Ressources, Service des études environnementales, 29 p.

DE LUCCA, A.J., 1979. "Two new serovars of Bacillus thuringiensis: serovars dakota and indiana (serovars 15 et 16)" dans J. Invertebrate Pathology, 34 (3), 323-324.

DRAPEAU, A.J., 1977. Microbiologie de l'environnement, 24, 251 p., Genève, Organisation mondiale de la santé.

DUGAL, J., L. MAJOR, P. CARDINAL et S. DELISLE, 1985. Etude de la persistance des insecticides biologiques dans les eaux naturelles en milieu forestier, Gouvernement du Québec, ministère de l'Energie et des Ressources, Service d'entomologie et de pathologie, 29 p.

FAST, D.G., 1983. "Bacillus thuringiensis parasporal toxin: Aspect of chemistry and mode of action" dans Toxicon, suppl., 3: 123-125.

FRYE, R.D., C.G. SHOLL, E.W. SCHOLZ and B.R. FUNKE, 1973. "Effet of weather on an microbial insecticide" dans Jour. of Invr. Path., 22: 50-54.

GOLDBERG, L.J. and J. MARGALIT, 1977. "A Bacterial Spore Demonstrating Rapid Larvicidal Activity Against Anopheles sergentii, Uranotaenia unguiculata, Culex univitattus, Aedes aegypti and Culex pipiens" dans Mosquito News, 37 (3), 355-359.

GOLDBERG, L.J., I. FORD, A.M. TANABE and H.M.S. WATKINS, 1977. "Effectiveness of "Bacillus sphaericus var. fusiformis" (SSII-) as potential mosquito larval control agent: the role of variations in natural microbial flora in the larval environment" dans Mosquito news, 37: 465-470.

IGNOFFO, C.M. et C. GARCIA, 1978. U.V. - Photo inactivation of cells and spores of Bacillus thuringiensis and effects of peroxidase in inactivation. Environ. Entomol. 7: 270-272.

KURSTAK, (ed)., 1982. Microbial and viral Pesticides, Marcel Dekker Inc., New York 222-234.

LASKIN, A.I., H.A. LECHEVALIER, 1977. Handbook of microbiology, 12ième Edition., CRC PRESS, Inc., Vol. 1, pp. 319-320.

LEGENDRE, L.P., Ecologie Numérique, 2. La structure des données écologiques, 2ième édition, Québec 1984.

MC BRIDE, R.P., 1980. The persistence of aerially applied "Bacillus thuringiensis" Kurstaki in Nova Scotian forest soils, Department of lands and Forest, Nouvelle-Ecosse, 22 p.

MAJOR, L., G. ROUSSEAU et R. LAMONTAGNE, 1985. Concentrations d'insecticides biologiques dans l'air de deux agglomérations urbaines de la région 01, Gouvernement du Québec, ministère de l'Energie et des Ressources, Service d'entomologie et de pathologie, 25 p.

MORRIS, O.N., et R. MC ERLEN, 1975. Studies on the protection of insect pathogens from sunlight inactivation, Information Report CC-X-112, Chemical Control Institute, Canadian Forestry Service, Ottawa, 13 pp.

SALEH, S.M., R.F. HARRIS and O.N. ALLEN, 1970. "Fate of Bacillus thuringiensis in soil: Effect of soil pH and organis amendment" dans Can. J. Microbiol., 16: 677-680.

SCHERRER, B. Biostatistique, Gaétan Morin ed., Chicoutimi, Québec, 1984.

WEST, A., H.D. BURGES and C.H. WYBORN, 1984. "Effect of incubation in Natural and Autoclaved soil upon potency and viability of Bacillus thuringiensis" dans J. Inver. Path., 44: 121-127.

ANNEXES

ANNEXE I

Composition des milieux de culture utilisés lors de l'analyse des échantillons de sol.

NUTRIENT AGAR:

	PAR LITRE
- Extrait de boeuf	3,0 g
- Pentone	5,0 g
- Agar	15,0 g

PEMBA:

- Pentone	1,0 g
- Mannitol	10,0 g
- Chlorure de sodium	2,0 g
- Sulfate de magnésium	0,1 g
- Di-sodium hydrogène phosphate	2,5 g
- Phosphate de potassium di-hydrogène	0,25 g
- Bleu de Bromothymol	0,12 g
- Pyruvate de sodium	10,0 g
- Agar	14,0 g
- Polymyxine B	100 unités
- Emulsion de jaune d'oeuf	50 ml

ANNEXE II

TABLEAU 2.1: CONCENTRATIONS DE SPORES DE B.t. DETECTEES DANS LE SOL SUITE AUX PULVERISATIONS D'INSECTICIDES BIOLOGIQUE EN 1984

	Nombre de U.F.C. x $10^3/cm^2$								
PRODUIT	THURICIDE 32LV								
STATION / DELAI (jour)	413-B_1	413-B_2	413-B_3	413-G_1	413-G_2	413-G_3	413-H_1	413-H_2	413-H_3
PRÉ	18,8	28,2	8,48	N.D.	138	257	63,5	23,8	202
1	N.D.	79,9	98,2	230	265	115	238	114	88,7
2	38,0	114,4	84,6	207	141	116	44,2	97,0	127
7 ou 9	89,3	17,9	14,6	121	202	83,0	95,9	93,2	123
14 ou 16	40,4	89,3	7,83	234	346	142	172	175	114
21 ou 23	64,9	69,3	132	167	240	83,0	159	243	175
28	20,4	223,8	26,1	303	226	67,7	49,8	N.D.	100
35	17,2	37,6	98,7	292	238	113	84,6	41,5	67,4
42	79,9	34,5	62,7	706	384	103	--	--	--
49	19,8	69,0	97,2	382	199	180	54,5	5,94	62,7
56	41,5	48,6	23,0	341	292	98,7	45,0	25,6	144
87	56,0	35,2	31,3	332	200	110	290	487	113
335	46,6	30,6	38,6	161,4	84,5	92,4	122	40,3	106,9

-- : absence de résultat
N.D.: non détecté

TABLEAU 2.1 (suite)

	Nombre de U.F.C. x 10^3/cm^2								
PRODUIT	THURICIDE 32LV								
STATION / DELAI (jour)	415-B_1	415-B_2	415-B_3	415-B_4	415-B_5	415-B_6	415-B_7	415-B_8	415-B_9
PRÉ	4,26	4,23	2,61	2,04	5,64	2,98	2,79	2,33	2,19
1	113	15,3	119	10,9	9,65	18,5	13,3	82,4	175
2	21,3	6,00	98,7	11,7	20,5	26,8	26,8	21,5	41,7
7 ou 9	61,6	21,1	65,8	17,4	13,5	12,0	150	59,2	150
14 ou 16	61,2	9,87	83,5	11,3	22,4	18,7	71,2	16,2	79,8
21 ou 23	49,5	43,1	91,7	21,8	22,7	14,3	105	28,7	94,1
28	282	16,6	35,5	5,95	19,7	14,2	67,1	15,9	63,5
35	33,9	17,9	48,9	4,94	17,4	10,4	18,9	12,9	35,4
42	43,5	20,2	87,8	7,19	17,1	10,2	46,5	24,8	47,2
49	23,1	15,8	32,4	8,06	82,3	10,5	10,3	25,4	73,3
56	17,2	31,0	47,5	17,6	10,8	9,54	12,5	66,6	35,1
87	--	--	--	--	--	--	--	--	--
335	15,4	14,5	17,3	7,6	12,9	11,9	15,9	45,8	54,2

TABLEAU 2.1 (suite)

PRODUIT	Nombre de U.F.C. x $10^3/cm^2$								
	THURICIDE 32LV								
STATION / DELAI (jour)	415-F_1	415-F_2	415-F_3	415-G_1	415-G_2	415-G_3	415-H_1	415-H_2	415-H_3
PRÉ	1,10	5,64	5,95	5,80	4,07	4,14	4,23	1,57	5,08
1	12,6	1,35	10,3	4,50	4,23	4,70	2,68	N.D.	7,83
2	6,30	4,10	13,4	3,60	N.D.	6,30	4,10	N.D.	7,38
7 ou 9	15,0	15,0	11,9	30,3	--	3,50	4,37	5,78	12,6
14 ou 16	19,7	3,27	11,5	2,04	5,17	5,87	10,19	9,39	12,5
21 ou 23	11,8	2,70	8,23	9,26	1,70	5,17	8,13	12,69	9,54
28			8,79	3,74	5,22	4,09	6,80	5,62	6,72
35				4,19	59,7	2,67	2,12	N.D.	N.D.
42				5,31	3,41		5,17	2,02	3,88
49				5,99	2,96		1,69	5,25	7,83
56				4,70	4,70				
87			Echantillonnage interrompu suite à des opérations forestières						
335									

TABLEAU 2.1 (suite)

PRODUIT	Nombre de U.F.C. x 10^3/cm^2								
	THURICIDE 48LV								
STATION / DELAI (jour)	517-A_1	517-A_2	517-A_3	517-B_1	517-B_2	517-B_3	517-C_1	517-C_2	517-C_3
PRÉ	0,125	0,682	0,504	N.D.	N.D.	N.D.	4,13	6,85	--
1	218	98,3	310	97,2	62,5	127	197	295	461
2	222	235	236	91,0	77,0	110	143	268	299
7 ou 9	268	174	223	146	82,3	95,4	234	31,3	291
14 ou 16	--	--	--	--	--	--	--	--	--
21 ou 23	22,1	20,2	12,7	91,7	12,7	15,5	108	127	22,1
28	152	195	259	146	76,6	69,1	133	147	408
35	167	204	320	79,9	79,9	129	221	347	412
42	220	126	249	81,3	61,1	113	449	202	249
49	--	--	--	--	--	--	--	--	--
56	--	--	--	--	--	--	--	--	--
87	128	73,8	102	34,3	28,2	34,3	139	119	200
335	153	160	169	46,2	32,9	32,6	298	182	364

TABLEAU 2.1 (suite)

PRODUIT	Nombre de U.F.C. x 10^3/cm^2								
	SAN 415								
STATION / DELAI (jour)	936-A_1	936-A_2	936-A_3						
PRÉ	2,98	N.D.	14,8						
1	296	528	595						
2	283	217	412						
7 ou 9	105	231	224						
14 ou 16	63,9	132	191						
21 ou 23	152	263	177						
28	205	120	473						
35	165	205	196						
42	147	172	230						
49	149	121	280						
56	119	403	175						
87	136	284	221						
335	216	295	258						

Gouvernement du Québec
Ministère de l'Énergie et des Ressources
Service des études environnementales